

RECUPERACIÓN POR FLOTACIÓN DE ENZIMAS HALÓFILAS PRESENTES EN CHARCAS SALINERAS

Oswaldo Pérez-López, Sergio Kauil, Sara Solís-Pereira, Gabriel Lizama- Uc y Gerardo Rivera Muñoz
Tecnológico Nacional de México//Instituto Tecnológico de Mérida, Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica,
Mérida, Yucatán, México C.P. 97118, albatros1953@msn.com
Palabras clave: Recuperación, Flotación, Enzimas.

Introducción. En este trabajo se cuantificó la actividad enzimática presente en las charcas salineras establecidas en la comunidad de las coloradas y que son propiedad de la empresa ISYSA, y se valoró la posibilidad de recuperar enzimas de interés industrial de una forma razonablemente fácil, rápida y no invasiva. Para ello se construyó y puso en marcha un prototipo de columna burbujeadora para la recuperación de las enzimas presentes en las salmueras. El objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles de actividad enzimática asociadas a la degradación de la materia orgánica; proteasas y lipasas presentes en el sistema de charcas salineras de Industria Salinera de Yucatán y establecer las condiciones de proceso para lograr la recuperación de estas enzimas por medio de un proceso de espumado.

Metodología. Para cuantificar la actividad proteolítica se utilizó el método modificado de Kunitz (1947)³ en el cual se colocan en un tubo 1 ml de sobrenadante diluido libre de células y 2 ml de solución de caseína al 2 % en buffer de fosfatos 0.2 M a pH 8.0. Se incubó a 40°C por 30 minutos y se detiene la reacción mediante la adición de 4 ml de ácido tricloroacético al 10 %. Se centrifuga a 12,000 rpm, durante 7 minutos a 4°C para separar la proteína no hidrolizada. En el sobrenadante se mide la cantidad de tirosina liberada por acción enzimática, utilizando el método de Lowry et al., 1951 Para diferenciar la cantidad de tirosina presente en el sistema de ensayo de la producida por la acción de las proteasas, para cada tubo muestra se prepara un tubo testigo de la misma manera que los anteriores con la diferencia de que a este se le agrega el ácido tricloroacético al inicio. Los valores de densidad óptica resultantes se convierten a concentraciones de tirosina [µg/ml] utilizando la curva estándar de tirosina. La actividad lipolítica se midió mediante la técnica de Hoffelman (1985) modificada. Esta técnica consiste en medir el cambio de pH generado en un sistema que contiene 12.8 ml de una emulsión de tributirina al 2.34% en buffer de succinatos 0.02M de pH 6.0 con PVA al 2.0 % y 1.0 ml de extracto enzimático crudo. El sistema de ensayo debe ser incubado en un baño maría a 37°C, durante 15 minutos y se toma la lectura de pH inicial y pH final.

Resultados. A continuación, se muestran los resultados de nuestras pruebas comparándolas con el trabajo de Cabrera et al. (2012)⁴ en el cual se realizaron las mismas pruebas con todas las charcas salineras del complejo, a diferencia de nosotros que utilizamos solo la charca chel y los amargos, pero debido a las condiciones en las que se mantuvieron las muestras, las actividades de ambas charcas fueron inmensamente menores a las reportadas por Cabrera además de que los amargos mostraron actividad casi nula y no pudieron ser burbujeados.

Conclusiones. Las actividades reportadas fueron menores a las de Cabrera dado a que fueron almacenadas a temperatura ambiente por lo que los procesos enzimáticos que se realizaban en la salmuera no disminuyeron su velocidad, por lo que se espera que en la segunda parte del trabajo se obtengan resultados similares.

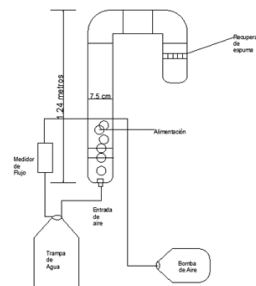


Fig. 1. Diagrama de la columna de burbujeo diseñada y utilizada para el burbujeo.

Tabla 1. Actividades en la columna de agua.

Charca	Actividad Proteolítica µmol de Tirosina/ml	Actividad Lipolítica µmol ac. butírico/ml	Proteína soluble (µg/ml)
Chel (Cabrera et al, 2012)	0.82	12.05	14.01
Chel (serie 1)	0.079621	5.9727206	0.09
Chel (serie 2)	0.077293	5.9727458	0.09

Tabla 2. Actividades de los recuperados.

Charca	Actividad Proteolítica µmol de Tirosina/ml	Actividad Lipolítica µmol ac. butírico/ml	Proteína soluble (µg/ml)
Chel (Cabrera et al, 2012)	0.93	11.96	12.61
Chel (serie 1)	0.078942	5.9726954	0.27
Chel (serie 2)	0.077196	5.9727766	0.42

Bibliografía.

- Lowry, O. H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- Hoffelman, M.; J. Hartman, A. Zinn and P. Scherier (1985) Isolation, purification and characterization of lipase isoenzymes from technical *Aspergillus niger* enzyme. J. of Food Sciences, 50: 1721-1725
- Kunitz, M (1947) Crystalline soybean trypsin inhibitor. J. Gen. Physiol., 30, 291-310.
- Cabrera-lópez, S., Rivera-solís, G. A., Escamilla-sánchez, J. B., Tamayo-cortes, J. A., Ortiz-milán, S., Solís-pereira, S. E., ... Norte, C. M. (n.d.). Charcas Salineras : Ecosistemas Susceptibles de ser Usados para la Recuperación de Enzimas de Interés Industrial Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, 16(2), 113–126.

